

ГІНЕКОЛОГІЯ

<https://doi.org/10.35339/ekm.2019.83.02.11>

УДК 618.39-021.3-008.9-018.74-078

С.В. Коровай¹, С.О. Стеценко², А.В. Бондарева²

¹*Харківська медична академія післядипломної освіти*

²*Харківський національний медичний університет*

**ОЦІНКА МЕТАБОЛІЗМУ НІТРОГЕНУ ОКСИДУ
ТА СИНТЕЗУ ЕНДОТЕЛІНУ-1 У ЖІНОК
ІЗ НЕВИНОШУВАННЯМ ВАГІТНОСТІ НА РІЗНИХ ТЕРМІНАХ**

Досліджували особливості метаболізму NO та визначали рівень ендотеліну-1 у сироватці крові жінок із невиношуванням вагітності на різних термінах. Обстежено 227 вагітних жінок, які поступили до Харківського міського перинатального центру. Формування клінічних груп проводилось залежно від терміну вагітності у вигляді передчасних та своєчасних пологів. Результати дослідження свідчать, що у жінок із невиношуванням вагітності виникає ендотеліальна дисфункція зі зсувом регуляторних впливів у бік вазоконстрикторів. Виявлені зміни метаболізму нітрогену оксиду та синтезу ендотеліну-1 у вагітних жінок свідчать про порушення адаптаційно-компенсаторних механізмів та можливість сприяння розвитку передчасних пологів і погіршенню внутрішньоутробного стану плода.

Ключові слова: *передчасні пологи, оксид азоту, ендотелін-1, ендотеліальна дисфункція.*

Вступ

Незважаючи на численні дослідження, проблема невиношування вагітності в Україні залишається вкрай актуальною. Останнє, певною мірою, пов'язано з недостатньою теоретичною обґрунтованістю поглядів щодо патогенезу, який за сучасними поглядами науковців має мультифакторіальну природу і ґрунтується на участі багатьох систем організму матері та плода [1, 2].

До однієї з ланок патогенезу невиношування вагітності відносять порушення гемодинаміки у фетоплацентарному комплексі [3–5]. Як відомо, підтримання стабільної рівноваги у гемодинамічній системі та оптимальних умов для транскapілярного обміну в мікроциркуляторному руслі відбувається завдяки певному рівню гідростатичного судинного тиску, безперервності кровотоку, відсутності пошкоджень судинної стінки [6]. За стабільності у гемодинамічній системі відповідає, перш за все, ендотелій, клітини якого синтезують широкий спектр біологічно активних

речовин, включаючи міцні вазодилататори (зокрема, нітрогену оксид) та вазоконстриктори (зокрема, ендотелін-1). Чинниками, здатними змінювати синтетичну активність ендотелію, можуть стати виявлені попередніми дослідженнями у жінок із невиношуванням вагітності порушення процесів нейроендокринної регуляції та імунометаболічні перебудови [7–9]. Зокрема, спостережуване підвищення у сполучній тканині катаболічних процесів над анаболічними у жінок із раннім невиношуванням вагітності, що завершилась пологами у термін 23–27 тижнів, стосовно жінок із фізіологічним перебігом вагітності так чи інакше супроводжується виснаженням регенераторних механізмів у міжклітинному матриксі сполучної тканини, що може слугувати маркером функціонального та структурного пошкодження ендотелію судин.

У загальному плані порушення продукції ендотеліальних субстанцій, зниження їх властивостей забезпечувати баланс у гемодинамічній системі розглядають як дисфункцію

© С.В. Коровай, С.О. Стеценко, А.В. Бондарева, 2019

ендотелію. Остання, як правило, характеризується дисбалансом вазоактивних речовин і факторів росту, зниженням тромборезистентних властивостей судин, активацією чинників запалення, підвищенням судинної проникності та ін. [10].

У адаптації фетоплацентарного кровообігу вагома роль відводиться вазоактивному фактору судин ендотелію – нітрогену оксиду (NO), який синтезується з амінокислоти L-аргініну під дією ензиму NO-синтази [4]. Доведено, що зміна рівня NO у вагітних жінок може супроводжуватись порушенням плацентациї, появою класичних симптомів еклампсії [11, 12]. Є дані про те, що у фізіологічних рівнях NO індукує процеси внутрішньоутробного росту, а за умов недостатності – призводить до його затримки [13, 14]. На думку деяких авторів, низьку активність ендотеліальної NO-синтази слід розглядати як патогенетичну ланку розвитку перинатальної патології та смерті плоду [15].

У розвитку ендотеліальної дисфункції особливу увагу приділяють ендотелінам, здатним безпосередньо та опосередковано через генерування NO впливати на зміну судинного тонуусу [16]. Пептид ендотелін-1 є одним з найбільш міцних вазоконстрикторів, що продукуються пошкодженими клітинами ендотелію [17]. За даними літератури, для ендотеліну-1 характерним є зниження матково-плацентарного кровотоку, спричинення гемоконцентрації, протеїнурії [18]. Але специфічність цього маркера зменшується внаслідок того, що підвищення його концентрації спостерігається при цілому ряді ускладнень вагітності.

Що стосується ролі системи «нітрогену оксид – ендотелін-1» у патогенезі невиношування вагітності, то проведений аналіз літературних джерел свідчить про наявність ряду нез'ясованих питань, а також у деяких випадках розбіжність даних, що диктує необхідність проведення досліджень у цьому напрямку.

Мета дослідження – вивчити особливості метаболізму NO та визначити рівень ендотеліну-1 в сироватці крові жінок з невиношуванням вагітності на різних термінах.

Матеріал і методи дослідження

Роботу виконано в рамках НДР кафедри «Особливості лікування і профілактики патологічних станів у прегравідарному періоді гестації та шляхи їх корекції» (№0111U003583).

Обстежено 227 вагітних жінок, які поступили до Харківського міського перинатального центру, з них 190 мали клінічні ознаки загрози передчасних пологів у термін гестації 23–

36 тижнів. Формування клінічних груп проводилось залежно від терміну вагітності у вигляді передчасних та своєчасних пологів. До I групи включено 48 жінок з раннім недоношуванням вагітності [середній вік (23,6±5,1) роки], що завершилась пологамі у термін від 23 до 27 тижнів. Залежно від гестаційного терміну всі вагітні із загрозою недоношування мали наступний розподіл: 23–25 тижнів – 23 вагітних (Ia підгрупа); 26–27 тижнів – 25 вагітних жінок (Iб підгрупа). У II групу включено 142 жінки [середній вік (24,7±4,2) роки] з пізнім терміном недоношування вагітності в термін від 28 до 36 тижнів, яких залежно від терміну пологів розподілили на підгрупи: IIa – 38 осіб (28–30 тижнів); IIб – 48 осіб (31–33 тижні); IIв – 56 осіб (34–36 тижнів). До III (контрольної) групи увійшло 37 жінок з фізіологічним перебігом вагітності [середній вік (26,1±2,7) роки], що завершилась пологамі без ускладнень терміном 38–41 тижнів. Критеріями включення жінок до груп були: молодий репродуктивний вік, одноплідна вагітність, відсутність гестозу, гострих і хронічних гінекологічних та соматичних захворювань. Діагностика передчасних пологів проводилась за наявності абдомінального больового синдрому та структурних змін шийки матки. Дослідження проводились з дотриманням принципів біоетики.

Активність NO-синтази (NOS) визначали за кількістю нітрит-аніону, що утворюється після інкубування при 37°C в реакційній суміші, що містила 1 мМ НАДФН, 1 мМ магній хлорид, 50 мМ калій фосфорнокислий однозаміщений, 2 мМ кальцій хлорид для вимірювання активності ендотеліальної ізоформи NOS (eNOS) або 4 мМ ЕДТА для вимірювання активності індукбельної ізоформи NOS (iNOS). Активність eNOS обчислювали як різницю між загальною та індукованою активністю [19]. Рівень нітрит-аніонів у депротейнізованій сироватці крові визначали за реакцією діазотування з реактивом Грісса (суміш рівних об'ємів 0,05 % N-нафтилетилендіаміну та 1 % сульфаніламідів в оцтовій кислоті), у якій утворюється забарвлений діазопродукт з максимумом поглинання при 538 нм. Оскільки реакція діазотування є специфічною для нітрит-аніонів, то для оцінки вмісту нітрат-аніонів попередньо проводили їх відновлення з наступним спектрофотометруванням при 538 нм [20]. Концентрацію

S-нітрозотіолів (S-NT) у сироватці крові оцінювали спектрофотометричним методом,

що ґрунтується на здатності NO окислювати сполуки з тіоловими угрупованнями з наступним визначенням рівня продукту реакції – 5,5-дітіобіс-2-нітробензойної кислоти [21]. Обчислення концентрації проводили за калібрувальною кривою, побудованою з використанням різних концентрацій відновленого глутатіону. Вміст ендотеліну-1 (ЕТ-1) визначали імуноферментним методом за допомогою тест-системи Amersham Pharmacia Biotech (Великобританія) та аналізатора Stat Fax-303 Plus (США). Статистичне опрацювання одержаних результатів проводили з використанням ліцензійних стандартизованих пакетів прикладних програм багатомірною статистичного аналізу Statistica 6.1. Ураховуючи відсутність нормального розподілу даних, використовували медіану вибірки (Me), значення нижнього (Q25) і верхнього (Q75) квартиля. Порівняння показників у групах проводили за непараметричним тестом Манна–Уїтні.

Результати та їх обговорення

У сироватці крові жінок I групи порівняно з жінками III групи виявилось вірогідне ($p < 0,001$) підвищення усередненої активності iNOS на 32 % (табл. 1). У Ia і Ib підгрупах це становило відповідно 29 % ($p = 0,0041$) і 34 % ($p = 0,0012$). Відносно жінок II групи вірогідних змін активності iNOS не виявлено ($p = 0,773$). На цьому тлі у жінок I групи у порівнянні з жінками III групи, відзначалось зниження ($p < 0,001$) у сироватці крові активності eNOS

в середньому на 28 % (Ia підгрупа – на 36 %; Ib підгрупа – на 22 %), тоді як порівняно з жінками II групи – на 18 % ($p = 0,0116$). Слід зазначити, що у 21 особи (44 %) I групи значення активності iNOS перевищували діапазон значень III групи, тоді як у випадку eNOS у 24 осіб (50 %), навпаки, відмічався вихід за межі нижнього значення діапазону III групи.

У сироватці крові пацієток II групи усереднена активність iNOS вірогідно ($p < 0,001$) відносно жінок з неускладненою вагітністю підвищувалась в середньому на 34 %, а активність eNOS - невірогідно ($p = 0,131$) знижувалась на 13 % (табл. 1). У підгрупах жінок відзначалось збільшення ($p \leq 0,0212$) активності iNOS, вагітність яких закінчилась пологами у термін 28–30 тижнів у середньому на 56 %, 31–33 тижні – на 41 %, тоді як у термін 34–36 тижнів – лише на 17 %. При цьому у жінок IIa підгрупи вірогідно ($p < 0,001$) відносно жінок III групи знижувалась на 25 % активність eNOS, тоді як у жінок IIб підгрупи – це було невірогідним ($p = 0,091$) й становило 14 %. Усереднена активність eNOS у IIв підгрупі практично дорівнювала значенням III групи ($p = 0,480$). Аналіз результатів виявив також, що у 61 випадку II групи (43 %) значення активності iNOS виходили за межі верхнього показника діапазону III групи, тоді як решта перетиналась з ним. Виявлено, що у 51 пацієтки (36 %) значення активності eNOS виходили за межі нижнього показника діапазону

Таблиця 1. Динаміка змін показників стану метаболізму нітрогену оксиду у сироватці крові жінок груп спостереження (Me (Q25; Q75))

Показник	I група (23–27), n=48		II група (28–36), n=142			III група (38–41) n=37
	Ia (23–25) n=23	Iб (26–27) n=25	IIa (28–30) n=38	IIб (31–33), n=48	IIв (34–36) n=56	
iNO-синтаза, пМ/хв·мг білка	0,56 (0,40; 0,67) ¹		0,56 (0,39; 0,68) ¹			0,39 (0,33; 0,49)
	0,53 (0,39; 0,65) ¹	0,59 (0,40; 0,68) ¹	0,63 (0,49; 0,79) ¹	0,59 (0,47; 0,69) ¹	0,45 (0,37; 0,59) ¹	
eNO-синтаза, пМ/хв·мг білка	0,39 (0,29; 0,58) ¹		0,57 (0,30; 0,78) ²			0,65 (0,53; 0,76)
	0,35 (0,29; 0,50) ¹	0,53 (0,29; 0,70) ¹	0,44 (0,30; 0,64) ¹	0,55 (0,32; 0,74) ¹	0,71 (0,32; 0,84)	
S-нітрозотіоли, мМ/л	0,43 (0,34; 0,49) ¹		0,35 (0,29; 0,42) ^{1,2}			0,29 (0,22; 0,35)
	0,46 (0,34; 0,51) ¹	0,39 (0,34; 0,48) ¹	0,38 (0,29; 0,44) ¹	0,32 (0,27; 0,40) ¹	0,35 (0,29; 0,42) ¹	
Нітрит-аніони, мкМ/л	10,5 (8,85; 13,6) ¹		23,4 (11,9; 29,8) ^{1,2}			18,8 (14,5; 21,2)
	10,0 (9,21; 14,2) ¹	11,0 (8,52; 13,5) ¹	16,3 (10,4; 3,4)	25,4 (13,8; 29,7) ¹	28,1 (18,5; 34,3) ¹	
Нітрат-аніони, мкМ/л	14,2 (11,5; 19,4) ¹		32,1 (23,2; 35,6) ²			30,9 (23,2; 35,6)
	14,6 (11,3; 19,2) ¹	13,2 (11,6; 23,7) ¹	19,5 (12,8; 27,4) ¹	35,9 (27,5; 42,3) ¹	38,1 (25,5; 47,8) ¹	

Примітка. ¹ – відмінності від III групи статистично значущі на рівні $p < 0,05–0,001$; ² – відмінності між I та II групами статистично значущі на рівні $p < 0,05–0,001$.

III групи, а відповідно у 22 випадках (15 %) – за межі верхнього показника.

Одержані результати свідчать, що у жінок з перериванням вагітності, особливо на ранніх термінах, відносно жінок з фізіологічним перебігом вагітності підвищується активність iNOS на тлі зниження активності eNOS. Доведено, що активність iNOS індукується, зокрема, активними формами кисню, а також впливом на організм хронічного стресу, яким стосовно до вагітних жінок є процес гестації [21]. Утворений під дією iNOS нітрогену оксид може виступати як джерело вільних радикалів на доповнення до продуктів ліпопероксидації [22, 23], кількість яких, за попередніми дослідженнями, значно підвищується у жінок з перериванням вагітності на ранніх та пізніх термінах. Ендотеліальна NOS належить до конститутивних ізоформ, саме утворений при цьому NO є фізіологічно значущим вазодилататором, інгібітором проліферації та мігрування гладеньком'язових клітин, інгібітором агрегування тромбоцитів [24, 25]. Можна припустити, що виявлене зниження у жінок eNOS спричинить пригнічення цих ефектів.

Участь NO в регуляції судинного тонуусу реалізується через індукування синтезу циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ). Але існують ефекти NO без участі цього нуклеотиду, зокрема, взаємодія з тіоловими угрупованнями амінокислот з утворенням активних метаболітів – S-НТ. Відносно III групи у сироватці крові жінок з перериванням вагітності на ранніх термінах (I група) виявлено вірогідне ($p < 0,001$) підвищення усередненої концентрації S-НТ на 50 % (Ia підгрупа – на 57 %, Ib підгрупа – на 43 %) (табл. 1). Звертає увагу наявність вірогідних змін ($p < 0,001$) вмісту цього показника при порівнянні I та II груп жінок між собою (підвищення у I групі при порівнянні з II групою становило 20 %). У 24 осіб (50 %) I групи значення вмісту S-НТ виходили за межі верхнього показника діапазону III групи. У сироватці крові жінок з перериванням вагітності на пізніх термінах (II група) підвищення концентрації S-НТ відносно жінок з фізіологічним перебігом вагітності ($p < 0,001$) було менш вираженим і становило 25 % (IIa підгрупа – 36 %, IIb підгрупа – 18 %, IIв підгрупа – 25 %). У 35 осіб (25 %) II групи значення рівня S-НТ виходили за межі верхнього показника діапазону III групи. У загальному плані у жінок з невиношуванням вагітності, особливо на ранніх термінах, можливим є підвищення, порівняно з жінками з перебігом вагітності без

ускладнень, рівня активних метаболітів NO. Якщо останні утворюються за участі амінокислотних залишків глутатіону, внутрішньоклітинних каспаз, Rho-ГТФаз, то припускається участь цих метаболітів NO у апоптичних процесах, регулюванні клітинного циклу, функціонального стану мітохондрій [26]. Але доведено, що надлишкове утворення S-НТ може спровокувати пригнічення процесів внутрішньоклітинного дихання та токсичне пошкодження клітин [27].

Невикористаний у хімічних реакціях NO швидко перетворюється на неактивні метаболіти – нітрити та нітрати. При порівнянні вмісту нітрит- та нітрат-аніонів у сироватці крові пацієнток I групи виявилось вірогідне ($p < 0,001$) відносно III групи зниження в середньому на 39 та 47 % відповідно (табл. 1). Аналогічна тенденція змін виявлена й при порівнянні з II групою – зниження ($p < 0,001$) на 50 % нітрит-аніонів та 48 % нітрат-аніонів. Для нітрит-аніонів у 28 осіб (58 %) цієї групи рівень був поза межами значень III групи, для нітрат-аніонів це спостерігалось у 25 випадках (52 %). Зниження ($p < 0,001$) концентрації нітрит- та нітрат-аніонів у жінок з передчасними пологоми терміном 23–25 тижнів (Ia підгрупа) становило в середньому 39 та 50 % відповідно, тоді як терміном 26–27 тижнів (Ib підгрупа) – 44 та 40 %.

У сироватці крові пацієнток II групи усереднена концентрація нітрит-аніонів вірогідно ($p = 0,0002$) у порівнянні з жінками з неускладненою вагітністю, навпаки, підвищувалась на 28 %, тоді як у випадку нітрат-аніонів вірогідних змін не виявлено ($p = 0,586$) (табл. 1). У підгрупах відзначалась неоднозначна динаміка: невірогідне ($p = 0,167$) зниження на 11 % рівня нітрит-аніонів у жінок, вагітність яких закінчилась пологоми терміном 28–30 тижнів, тоді як в термін 31–33 та 34–36 тижнів – збільшення ($p \leq 0,012$) на 28 та 44 % відповідно. При цьому для нітрат-аніонів відзначалась аналогічна тенденція змін: зниження ($p < 0,001$) на 33 % в IIa підгрупі, підвищення ($p \leq 0,045$) на 11 і 22 % відповідно в IIб і IIв підгрупах. Аналіз результатів показав, що у 29 випадках (20 %) II групи концентрація у крові нітрит-аніонів була нижче нижнього показника діапазону III групи, тоді як у 47 випадках (33 %) – вище. Для значень концентрації нітрат-аніонів це спостерігалось відповідно у 28 (19 %) та 38 (27 %) випадках.

У жінок I групи порівняно з жінками III групи відзначалось суттєве збільшення ($p < 0,001$)

усередненого вмісту в сироватці крові ЕТ-1 на 96 % (Ia підгрупа – на 84 %, Ib підгрупа – на 104 %), тоді як порівняно з жінками II групи – на 24 % (табл. 2). У 32 жінок (67 %)

стрикторними властивостями – пероксинітри. Внаслідок таких подій знижується біодоступність NO та утворення його кінцевих стабільних метаболітів – нітритів і нітратів, що, у

Таблиця 2. Вміст ендотеліну-1 у сироватці крові жінок груп спостереження (Me (Q25; Q75))

Показник	I група (23–27), n=48		II група (28–36), n=142			III група (38–41) n=37
	Ia (23–25) n=23	Ib (26–27) n=25	IIa (28–30) n=38	IIб (31–33), n=48	IIв (34–36) n=56	
Ендотелін-1, фМ/мл	0,89 (0,69; 1,01) ¹		0,72 (0,47; 0,93) ^{1,2}			0,42 (0,27; 0,56)
	0,87 (0,65; 0,95) ¹	0,90 (0,78; 1,058) ¹	0,69 (0,50; 0,94) ¹	0,73 (0,38; 0,99) ¹	0,72 (0,52; 0,87) ¹	

Примітка: ¹ – відмінності від III групи статистично значущі на рівні $p < 0,05-0,001$; ² – відмінності між I та II групами статистично значущі на рівні $p < 0,05-0,001$.

I групи значення вмісту ЕТ-1 виходили за межі верхнього показника діапазону значень III групи, решта – перетиналась з ним. У жінок II групи спостерігалась аналогічна тенденція – підвищення в середньому на 58 % (IIa підгрупа – на 67 %, IIб підгрупа – на 58 %, IIв підгрупа – на 53 %). У цих пацієнток перевищення діапазону значень III групи реєструвалось у 62 випадках (42 %). Виявлене підвищення синтезу та секреції ЕТ-1 у жінок з невиношуванням порівняно з жінками з неускладненою вагітністю є прогностичною ознакою плацентарної та ендотеліальної дисфункції.

Отже, у групах жінок з невиношуванням порівняно з жінками з фізіологічним перебігом вагітності виявлено певні зміни метаболізму нітрогену оксиду на тлі підвищення продукування ендотеліну-1.

У пацієнток з перериванням вагітності на ранніх термінах можливим є зниження активності eNOS при підвищенні iNOS, що призводить до зменшення утворення стабільних метаболітів NO – нітрит- та нітрат-аніонів при підвищенні утворення активних метаболітів – S-НТ. Імовірно, пригнічення ендотеліальної ізоформи NOS компенсаторно активує патологічну макрофагальну ізоформу – iNOS, що продукує NO з подальшим перетворенням переважно на S-НТ, знижуючи цим його біодоступність. Такий метаболічний розлад скоріше пов'язаний з виявленим у попередніх дослідженнях послабленням у жінок з невиношуванням на ранніх термінах системи антиоксидувального захисту, зокрема зі зниженням активності СОД, на тлі підвищення генерації активних форм кисню та процесів ліпопероксидації [28]. За таких умов значна частина NO взаємодіє з супероксидним аніон-радикалом, утворюючи високотоксичну сполуку з вазокон-

свою чергу, може зумовити вазоконстрикцію судин, стимулювати агрегацію та адгезію тромбоцитів, проліферацію та міграцію гладеньком'язових клітин та ін. [28, 29]. Оксидативний стрес, що виникає у жінок з перериванням вагітності, вважається одним із головних тригерних механізмів пошкодження ендотелію, розвиток якого супроводжується підвищеною продукцією ендотеліну-1 [11, 30]. Підвищення в крові жінок I групи ендотеліну-1 при одночасному зниженні нітрит- та нітрат-аніонів переконливо свідчить про дисрегуляцію судинного тону. Окремо слід зазначити, що при фізіологічному перебігу вагітності найбільша активність eNOS відзначається на ранніх термінах, що сприяє зниженню скорочувальної активності матки та периферійного судинного опору, підтриманню адекватного кровотоку у матері та плоду [11]. З цього приводу, виявлене зниження активності eNOS у жінок з невиношуванням на ранніх термінах може стати додатковим чинником підвищення маткового тону та порушення гемодинаміки у фетоплацентарному комплексі.

У пацієнток з перериванням вагітності на пізніх термінах у порівнянні з пацієнтками, вагітність яких протікає без ускладнень, реєструють менш виражене зниження активності eNOS при підвищенні активності iNOS, зростання утворення не тільки S-НТ, а й кінцевих стабільних метаболітів – нітритів і нітратів на тлі продукування у підвищених кількостях ендотеліну-1. Скоріше такі метаболічні перетворення NO та синтез ендотеліну-1 носять компенсаторний характер, що в комплексі з іншими регуляторними молекулярно-клітинними механізмами дозволяє пролонгувати вагітність, хоча її перебіг характеризується загрозою переривання. Крім того, у цій категорії

жінок порівняно з жінками з фізіологічним перебігом вагітності спостерігається включення компенсаторних реакцій антиокислювального захисту (зокрема, підвищення СОД) на тлі підвищення процесів ліпопероксидації [30], внаслідок чого знижується використання NO в реакції з супероксидним аніон-радикалом, що підвищує його біодоступність та утворення кінцевих стабільних метаболітів.

Висновки

1. У жінок з невиношуванням вагітності, що завершилась пологоми терміном 23–27 тижнів, порівняно з жінками з неускладненою вагітністю, що завершилась пологоми терміном 38–41 тиждень, виникає ендотеліальна дисфункція зі зсувом регуляторних впливів у бік вазоконстрикторів, що підтверджується суттєвим зростанням в сироватці крові концентрації ендотеліну-1 (на 96 %, $p < 0,001$), зниженням активності eNOS (на 28 %, $p < 0,001$) при підвищенні iNOS (на 32 %, $p < 0,001$), зменшенням утворення стабільних метаболітів NO – нітрит/нітрат-аніонів (на 39 та 47 %, $p < 0,001$)

при підвищенні утворення активних метаболітів – S-НТ (на 50 %, $p < 0,001$).

2. У жінок з невиношуванням вагітності, що завершилась пологоми терміном 28–36 тижнів, порівняно з жінками з неускладненою вагітністю, що завершилась пологоми терміном 38–41 тиждень, метаболічні перетворення NO та синтез ендотеліну-1 носять компенсаторний характер, що в комплексі з іншими регуляторними молекулярно-клітинними механізмами дозволяє пролонгувати вагітність, хоча її перебіг характеризується загрозою переривання: зниження активності eNOS становить 13 % ($p = 0,131$), підвищення активності iNOS – 34 % ($p < 0,001$), концентрації S-НТ – 25 %, ($p < 0,001$), нітритів/нітратів – 28 та 17 % ($p < 0,001$), а ендотеліну-1 – 58 % ($p < 0,001$).

3. Виявлені зміни метаболізму нітрогену оксиду та синтезу ендотеліну-1 у вагітних жінок свідчать про порушення адаптаційно-компенсаторних механізмів та можливість сприяння розвитку передчасних пологів і погіршенню внутрішньоутробного стану плода.

Література

1. Невиношування вагітності: сучасні погляди на проблему / І. І. Воробйова, А. А. Живецька-Денисова, В. Б. Ткаченко та ін. // Здоровье женщины. – 2017. – № 3 (119). – С. 113–117.
2. Margarita E. Ahumada-Barríos. Risk Factors for premature birth in a hospital / Margarita E. Ahumada-Barríos, German F. Alvarado // Rev. Latino-Am. Enfermagem. – 2016. – Vol. 24. – P. 1–8.
3. Анализ полиморфизма генов нейрональной (nNOS) и эндотелиальной (eNOS) NO-синтазы при плацентарной недостаточности и задержке внутриутробного развития плода / О. Н. Беспалова, О. А. Тарасенко, Т. Э. Иващенко, В. С. Баранов // Журнал акушерства и женских болезней. – 2006. – Т. LV, Вып. 1. – С. 57–62
4. Зверко В. Л. Недостаточное образование оксида азота как один из патогенетических факторов угрозы невынашивания беременности / В. Л. Зверко, Н. Е. Максимович, Т. С. Милош // Журнал ГрГМУ. – 2010. – № 3. – С. 60–62.
5. Шевченко А. О. Невиношування вагітності: акцент на чинники ризику, патогенез та прогнозування / А. О. Шевченко, К. С. Любомирська, О. Д. Кирилюк // Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. – 2016. – Т. 10, № 2/3. – С. 58–63.
6. Грищенко О. В. Роль матрикса соединительной ткани в обеспечении функциональной активности эндотелия у беременных / О. В. Грищенко, А. В. Сторчак, Буй Сон Тоан // Репродуктивная эндокринология. – 2011. – № 1. – С. 36–41.
7. Герасімова Т. В. Профілактика репродуктивних втрат при плацентарній дисфункції / Т. В. Герасімова, О. В. Морозова, О. М. Гопчук // Здоровье женщины. – 2017. – № 4 (120). – С. 35–40.
8. Блощинская И. А. Функциональное состояние сосудистого эндотелия и нарушения микроциркуляции при беременности, осложненной гестозом и влияние на них нормобарической гипокситерапии: автореф. дис. На здобуття ступеня канд. мед. наук / И. А. Блощинская. – Томск, 2003. – 36 с.
9. Guimaraes M. F. Assessment of endothelial function in pregnant women / M. F. Guimaraes, A. N. Brandao, C. A. Rezende // Arch Gynecol Obstet. – 2014. – Vol. 290. – P. 441–447.
10. Булаева Н. И. Эндотелиальная дисфункция и оксидативный стресс: роль в развитии кардиоваскулярной патологии / Н. И. Булаева, Е. З. Голухова // Креативная кардиология. – 2013. – № 1. – С. 14–22.

11. *Рождественская Т. А.* Влияние индуцибельной NO-синтазы и оксида азота в сыворотке крови беременных с артериальной гипертензией на состояние плодового кровотока / Т. А. Рождественская, С. С. Лазуко // Проблемы репродукции. – 2015. – № 5. – С. 127–131.
12. *Krukier Y. Y.* Production and reception of growth factors in the placenta during physiological and gestosis complicated pregnancy / Y. Y. Krukier, T. N. Pogorelova, V. Y. Orlov // Biochemistry. – 2007. – Vol. 1 (3). – P. 267–269.
13. *Блашків Т. В.* Репродуктивна функція: роль NO в забезпеченні овуляції і імплантації / Т. В. Блашків, О. Н. Сердюк, Т. Ю. Вознесенська, А. Г. Портниченко // Проблемы репродукции. – 2012. – № 3. – С. 11–16.
14. *Ковалев Е. В.* Диагностическая значимость определения индуцибельной NO-синтазы в диагностике задержки роста плода в третьем триместре беременности / Е. В. Ковалев, С. С. Лазуко, Ю. В. Занько // Охрана материнства и детства. – 2015. – № 1 (25). – С. 36–40.
15. *Макулова М. В.* Эндотелиальная дисфункция в патогенезе гестоза // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Т. LXIII, Вып. 6. – С. 44–54.
16. Biomarkers for the management of pre-eclampsia in pregnant women / Petla L. T., Chikkala R., Ratnakar K. S., Kodati V. // Indian J. Med. Res. – 2013. – Vol. 138. – P. 60–67.
17. *Фомина М. П.* Эндотелиальная дисфункция и баланс ангиогенных факторов у беременных с плацентарными нарушениями / Фомина М. П., Дивакова Т. С., Ржеуская Л. Д. // Медицинские новости. – 2014. – № 3. – С. 63–67.
18. Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase / B. Godber, J. J. Doel, G.P. Sapkota et al. // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275. – P. 7757–7763.
19. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation / Moshage H., Kok B., Huizenga J. R., Jansen P. L. // Clin. Chem. – 1995 – Vol. 41 (6). – P. 892–896.
20. *Marzinzig M.* Improved methods end products of nitric oxide in biological fluids: nitrites, nitrates and S-nitrosotriols / M. Marzinzig, A. K. Nussler, J. Stadler // Nitric oxide. – 1997. – Vol. 1. – P. 177–189.
21. *Moncada S.* Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology / S. Moncada., R. M. J. Palmer, E. A. Higgs // Pharmacol. Rev. – 1991. – Vol. 43. – P. 109–142.
22. *Метельская В. А.* Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека / В. А. Метельская, Н. Г. Гуманова // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 19–24.
23. *Forstermann U.* Nitric oxide synthases: regulation and function / U. Forstermann, W. Sessa // Eur. Heart J. – 2012. – Vol. 33. – P. 829–837.
24. Hoffmann J. TNF- α and oxLDL reduce protein S-Nitrosylation in endothelial cells / J. Hoffmann, J. Haendeler, A. M. Zeiber // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol. 276 (44). – P. 41383–41387.
25. Reversible inhibition of cellular respiration by nitric oxide in vascular inflammation / V. Borutaite, A. Matthias, H. Harris et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2001. – Vol. 281 (6). – P. 2256–2260.
26. *Kietadisorn R.* Tackling endothelial dysfunction by modulating NOS uncoupling: new insights into its pathogenesis and therapeutic possibilities / R. Kietadisorn, Rio. P. Juni, An. L. Moens // Am. Endocrinology and Metabolism. – 2012. – Vol. 302 (5). – P. 481–495.
27. *Korovay S.* Antioxidant protection status and lipoperoxidation processes in women with premature birth in different terms of gestation / S. Korovay, S. Stetsenko, A. Bondareva // Georgian medical news. – 2019. – №2 (287). – С. 20–25.
28. Сучасні уявлення про NO-регулюючу систему / Л. Г. Нетюхайло, Л. К. Іщейкіна, Я. О. Басараб, С. В. Харченко // Молодий вчений. – 2015. – № 1 (16). – С. 156–158.
29. *Jain A.* Endothelin 1: a key pathological factor in pre-eclampsia // Reprod. Biomed. Online. – 2012. – Vol. 25 (5). – P. 443–449.
30. *Газиева И. А.* Роль нарушений гормональной и сосудистой регуляции в генезе ранних репродуктивных потерь / И. А. Газиева, Г. Н. Чистякова, И. И. Ремизова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Т. LXIII, Вып. 4. – С. 22–33.

References

1. Vorobyova I.I., Zhivetska-Denisova A.A., Tkachenko V.B. et al. (2017). Nevinoshuvnnya vagitnosti: suchasni poglyadi na problemu [Breastfeeding: contemporary views on the problem]. *Zdorove zhenshchiny – Woman's health*, № 3 (119), pp. 113–117 [in Russian].

2. Margarita E. Ahumada-Barrios, German F. Alvarado (2016). Risk Factors for premature birth in a hospital. *Rev. Latino-Am. Enfermagem.*, vol. 24, pp.1–8.
3. Bepalova O.N., Tarasenko O.A., Ivaschenko T.E., Baranov V.S. (2006). Analiz polimorfizma genov neyronalnoy (nNOS) i endotelialnoy (eNOS) NO-sintaz pri platsentarnoy nedostatochnosti i zaderzhke vnutriutrobnogo razvitiya ploda [Analysis of neuronal (nNOS) and endothelial (eNOS) NO-synthase genes polymorphism in placental insufficiency and intrauterine growth retardation]. *Zhurnal akusherstva i zhenskih bolezney – Journal of Obstetrics and Women's Diseases*, vol. LV, № 1, pp. 57–62 [in Russian].
4. Zverko V.L., Maksimovich N.E., Milosh T.S. (2010). Nedostatochnoe obrazovanie oksida azota kak odin iz patogeneticheskikh faktorov ugrozyi nevyinashivaniya beremennosti [Insufficient formation of nitric oxide as one of the pathogenetic factors of the miscarriage threatment]. *Zhurnal GrSMU – Journal of GrSMU*. № 3, pp. 60–62 [in Russian].
5. Shevchenko A.O., Lyubomirska K.S., Kirilyuk O.D. (2016). Nevinoshuvannya vagitnosti: aktsent na chinniki riziku, patogenez ta prognozuvannya [Pregnancy incidence: emphasis on risk factors, pathogenesis and prognosis]. *Mizhnarodniy zhurnal pediatriyi, akusherstva ta ginekologiyi – International Journal of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology*, vol. 10, № 2/3, pp. 58–63 [in Ukrainian].
6. Grischenko O.V., Storchak A.V., Buy Son Toan (2011). Rol matriksa soedinitelnoy tkani v obespechenii funktsionalnoy aktivnosti endoteliya u beremennyih [The connective tissue matrix role in ensuring of the endothelium functional activity in pregnant women]. *Reproduktivnaya endokrinologiya – Reproductive endocrinology*, № 1, pp. 36–41 [in Russian].
7. Gerasimova T.V. Morozova O.V., Gopchuk O.M. (2017). Profilaktika reproduktivnih vtrat pri platsentarniy disfunktsiyi [Prevention of reproductive loss in placental dysfunction]. *Zdorov'ye zhenshchiny – Women's health*, № 4 (120), pp. 35–40 [in Ukrainian].
8. Bloschinskaya I.A. (2003). Funktsionalnoe sostoyanie sosudistogo endoteliya i narusheniya mikrotsirkulyatsii pri beremennosti, oslozhennoy gestozaom i vliyanie na nih normobaricheskoy gipoksiterapii [The functional state of the vascular endothelium and impaired microcirculation during pregnancy complicated by preeclampsia and the effect of normobaric hypoxytherapy on them]. *Extended abstract of candidate's thesis*. Tomsk, 36 p. [in Russian].
9. Guimaraes M.F., Brandao A.H., Rezende C.A. (2014). Assessment of endothelial function in pregnant women. *Arch Gynecol Obstet.*, vol. 290, pp. 441–447.
10. Bulaeva N.I., Goluhova E.Z. (2013). Endotelialnaya disfunktsiya i oksidativnyy stress: rol v razvitii kardiovaskulyarnoy patologii [Endothelial dysfunction and oxidative stress: a role in the cardiovascular pathology development]. *Kreativnaya kardiologiya – Creative cardiology*, № 1, pp. 14–22 [in Russian].
11. Rozhdestvenskaya T.A., Lazuko S.S. (2015). Vliyanie indutsibelnoy NO-sintazyi i oksida azota v syivorotke krovi beremennyih s arterialnoy gipertenziey na sostoyanie plodovogo krovotoka [Effect of inducible NO synthase and nitric oxide on the state of fetal blood flow in the serum of pregnant women with arterial hypertension]. *Problemy reproduksii – Reproduction problems*, № 5, pp. 127–131 [in Russian].
12. Krukier Y.Y., Pogorelova T.N., Orlov V.Y. (2007). Production and reception of growth factors in the placenta during physiological and gestosis complicated pregnancy. *Biochemistry*, vol. 1 (3), pp. 267–269.
13. Blashkiv T.V. Serdyuk O.N., Voznesenskaya T.Yu., Portnichenko A.G. (2012). Reproduktivnaya funktsiya: rol NO v obespechenii ovulyatsii i implantatsii [Reproductive function: the role of NO in the ovulation and implantation ensuring]. *Problemy reproduksii – Reproduction problems*, № 3, pp. 11–16 [in Russian].
14. Kovalev E.V., Lazuko S.S., Zanko Yu.V. (2015). Diagnosticheskaya znachimost opredeleniya indutsibelnoy NO-sintazyi v diagnostike zaderzhki rosta ploda v tretem trimestre beremennosti [Diagnostic significance of inducible NO synthase determination in the fetal growth retardation diagnosis in the third trimester of pregnancy]. *Ohrana materinstva i detstva – The motherhood and childhood protection*, № 1 (25), pp. 36–40 [in Russian].
15. Makulova M.V. (2014). Endotelialnaya disfunktsiya v patogeneze gestoza [Endothelial dysfunction in the preeclampsia pathogenesis]. *Zhurnal akusherstva i zhenskih bolezney – Journal of Obstetrics and Women's Diseases*, vol. LXIII, № 6, pp. 44–54 [in Russian].

16. Petla L.T., Chikkala R., Ratnakar K.S., Kodati V. (2013). Biomarkers for the management of pre-eclampsia in pregnant women. *Indian J. Med. Res.*, vol. 138, pp. 60–67.
17. Fomina M.P., Divakova T.S., Rzeusskaya L.D. (2014). Endotelialnaya disfunktsiya i balans angiogenyih faktorov u beremennyih s platsentarnymi narusheniyami [Endothelial dysfunction and balance of angiogenic factors in pregnant women with placental disorders]. *Meditsinskie Novosti – Medical news*, № 3, pp. 63–67 [in Russian].
18. Godber B., Doel J.J., Sapkota G.P. et al. (2000). Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase. *J. Biol. Chem.*, vol. 275, pp. 7757–7763.
19. Moshage H., Kok B., Huizenga J.R., Jansen P.L. (1995). Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation. *Clin. Chem.*, vol. 41 (6), pp. 892–896.
20. Marzinzin M., Nussler A.K., Stadler J. (1997). Improved methods end products of nitric oxide in biological fluids: nitrites, nitrates and S-nitrosotriols. *Nitric oxide*, vol. 1, pp. 177–189.
21. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, vol. 43, pp. 109–142.
22. Metelskaya V.A., Gumanova N.G. (2005). Oksid azota: rol v regulyatsii biologicheskikh funktsiy, metodyi opredeleniya v krovi cheloveka [Nitric oxide: role in the regulation of biological functions, methods for determining in human blood]. *Laboratornaya meditsina – Laboratory medicine*, № 7, pp. 19–24 [in Russian].
23. Forstermann U., Sessa W. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart J.*, vol. 33, pp. 829–837.
24. Hoffmann J., Haendeler J., Zeiber A.M. (2001). TNF- α and oxLDL reduce protein S-Nitrosylation in endothelial cells. *J. Biol. Chem.*, vol. 276 (44), pp. 41383–41387.
25. Borutaite V., Matthias A., Harris H. et al. (2001). Reversible inhibition of cellular respiration by nitric oxide in vascular inflammation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, vol. 281 (6), pp. 2256–2260.
26. Kietadisorn R., Juni Rio P, Moens An.L. (2012). Tackling endothelial dysfunction by modulating NOS uncoupling: new insights into its pathogenesis and therapeutic possibilities. *Am. Endocrinology and Metabolism*, vol. 302 (5), pp. 481–495.
27. Korovay S, Stetsenko S., Bondareva A. (2019). Antioxidant protection status and lipoperoxidation processes in women with premature birth in different terms of gestation. *Georgian medical news*, № 2 (287), pp. 20–25.
28. Netyuhaylo L.G., Ischeykina L.K., Basarab Ya.O., Harchenko S.V. (2015). Suchasni uyavlennya pro NO-regulyuyuchu sistemu [Modern notions about the NO-regulatory system]. *Molodiy vcheniy – Young scientist*, № 1 (16), pp. 156–158 [in Ukrainian].
29. Jain A. (2012). Endothelin 1: a key pathological factor in pre-eclampsia. *Reprod. Biomed. Online*, vol. 25 (5), pp. 443–449.
30. Gazieva I.A. Chistyakova G.N., Remizova I.I. (2014). Rol narusheniy gormonalnoy i sosudistoy regulyatsii v geneze rannih reproduktyvnyih poter [The role of hormonal and vascular regulation disorders in the genesis of early reproductive losses]. *Uralskiy nauchno-issledovatel'skiy institut ohranyi materinstva i mladenchestva – Ural Research Institute of Maternity and Infancy*, vol. LXIII, issue 4, pp. 22–33 [in Russian].

С.В. Коровай, С.А. Стеценко, А.В. Бондарева

ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЗМА ОКСИДА АЗОТА И СИНТЕЗА ЭНДОТЕЛИНА-1 У ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ НА РАЗНЫХ СРОКАХ

Исследовали особенности метаболизма NO и определяли уровень эндотелина-1 в сыворотке крови женщин с невынашиванием беременности на разных сроках. Обследовано 227 беременных женщин, поступивших в Харьковский городской перинатальный центр. Формирование клинических групп проводилось в зависимости от срока беременности в виде преждевременных и своевременных родов. Результаты исследования показали, что у женщин с невынашиванием беременности возникает эндотелиальная дисфункция со сдвигом регуляторных воздействий в сторону вазоконстрикторов. Выявленные изменения метаболизма азота и синтеза эндотелина-1 у беременных женщин свидетельствуют о нарушении адаптационно-компенсаторных механизмов и возможно содействуют развитию преждевременных родов и ухудшению внутриутробного состояния плода.

Ключевые слова: преждевременные роды, оксид азота, эндотелин-1, эндотелиальная дисфункция.

S.V. Korovay, S.A. Stetsenko, A.V. Bondareva

**EVALUATION OF NITROGEN OXIDE METABOLISM AND ENDOTHELIN-1 SYNTHESIS
IN WOMEN WITH EARLY TERMINATION OF PREGNANCY AT DIFFERENT GESTATIONAL AGE**

The features of NO metabolism were studied and the level of endothelin-1 in the blood serum of women with early termination of pregnancy at different gestational ages was determined. 227 pregnant women enrolled in the Kharkov city perinatal center were examined. The formation of clinical groups was carried out depending on the duration of pregnancy in the form of premature and timely birth. The results of the study showed that in women with premature birth, endothelial dysfunction occurs with a shift in regulatory effects towards vasoconstrictors. The revealed changes in the nitrogen oxide metabolism and the synthesis of endothelin-1 in pregnant women indicate a violation of the adaptive-compensatory mechanisms and the possibility of promoting the development of preterm birth and the deterioration of the fetal condition.

Keywords: *premature birth, nitrogen oxide, endothelin-1, endothelial dysfunction.*

Надійшла до редакції 14.05.2019

Контактна інформація

Коровай Сергій Вікторович – кандидат медичних наук, лікар акушер-гінеколог кафедри акушерства, гінекології і перинатології Харківської медичної академії післядипломної освіти.

Адреса: Україна, 61176, м. Харків, вул. Амосова, 58.

Тел.: +380503641332.

E-mail: Korovai.sergei@gmail.com.

ORCID: 0000-0002-1590-3494.

Стеценко Світлана Олександрівна – кандидат біологічних наук, доцент кафедри біологічної хімії Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, пр. Науки, 4.

Тел.: +380688865526.

E-mail: steps.ps@rambler.ru.

ORCID: 0000-0003-2783-2694.

Бондарева Алла Володимирівна – кандидат біологічних наук, асистент кафедри біологічної хімії Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, пр. Науки, 4.

Тел.: +380668777345.

E-mail: Bondareva.alla@i.ua.

ORCID: 0000-0003-1286-2962.